BEITRAG ZUR KENNTNISS

DES

OXYHAEMOGLOBINS

IM BLUTE DER

HAUSSÄUGETHIERE UND DES HAUSGEFLÜGELS.

INAUGURAL-DISSERTATION

VORGELEGT DER

PHILOSOPHISCHEN FACULTÄT

DER

UNIVERSITÄT ERLANGEN

BEHUFS

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

VON

GEORG ALFRED MÜLLER

AUS DRESDEN.

LEIPZIG.

GUSTAV WOLF, VERLAGSBUCHHANDLUNG.

1886.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546420_0122

Das Haemoglobin, dessen empirische Formel von Preyer (Die Blutkrystalle. Jena 1871, S. 65) zu $C_{600}\ H_{960}\ N_{154}\ Fe\ S^3\ O_{179}$, von Hüfner (Journal für praktische Chemie. N. F. 22, S. 362) zu $C_{636}\ H_{1025}\ N_{164}\ Fe\ S_3\ O_{189}$ berechnet worden ist, spielt eine ausserordentlich wichtige Rolle im Blute der höher entwickelten Thiere und scheint in der Hauptsache nur den Vertebraten eigenthümlich zu sein.

Indessen liegen Beobachtungen vor, nach denen das Haemoglobin auch im Blute einiger wirbellosen Thiere vorkommt; A. Rollet gelang es, aus den bei ausschliesslicher Pflanzennahrung roth gewordenen Larven von *Chironomus plumosus L.* Haeminkrystalle darzustellen, Preyer fand, dass das Blut von *Lumbricus agricola Hoffm.* Absorptionsstreifen zeigt, welche sich mit denen des Menschenblutes vollständig decken, Ray Lankester wies im Blute von *Branchipus diaphanus Prév.* und von *Planorbis corneus L.*, Leydig in dem verschiedener Gnathobdelliden Haemoglobin nach u. s. w.

Während bei diesen niederen Thieren das Haemoglobin in der Blutflüssigkeit gelöst ist und eine besondere Rolle nicht gerade zu spielen scheint, ist es im Blute der Vertebraten in den rothen Blutkörperchen enthalten und dazu bestimmt,

> Sauerstoff aus der Luft locker chemisch zu binden und den wichtigen Oxydationsvorgängen im Thierkörper dienstbar zu machen.

Während seines schnellen Laufes durch das respiratorische Capillarnetz bindet das Blut Sauerstoff und giebt diesen während seines Circulirens durch die Körper-Capillaren zum grössten Theil wieder ab; der Stoff, welcher dergestalt die Vermittlerrolle zwischen der Luft und den animalen Geweben zu übernehmen

hat, ist eben unser Haemoglobin, welches somit eine ganz eigenthümliche, niemals weiter beobachtete Doppeleigenschaft besitzt, nämlich: eine energische chemische Affinität, gepaart mit relativer Unbeständigkeit. Ein Gramm reducirtes Haemoglobin absorbirte nach Preyer (l. c. S 133) unabhängig vom Druck in wässeriger Lösung im Mittel aus drei Versuchen 1,3 Ccm. Sauerstoff, nach Hoppe-Seyler (Phys. Chemie. Berlin 1881, S. 382) 1,68 Ccm. und nach Hüfner (l. c. S. 363) 1,202 Ccm. bei 0° und 1 Mtr. Druck.

Bei der hohen Wichtigkeit, welche demnach das Haemoglobin für die Vertebraten besitzt, konnte es nicht fehlen, dass sich sehr bald nach der wirklichen*) Entdeckung dieses eisenhaltigen Proteïds durch Otto Funke (Zeitschrift f. rat. Medicin. N. F. 1881, I, S. 185) zahlreiche Forscher bemühten, den Haemoglobingehalt des Blutes festzustellen. Leider betrafen jedoch die meisten derartigen Untersuchungen das Blut gesunder und kranker Menschen, und nur wenige Gelehrte zogen auch das Thierblut in's Bereich ihrer Forschungen. Unter diesen waren es besonders Preyer, sowie Ssubbotin und Forster, welche schönes Material lieferten.

Nach Preyer (Annal. Chem. et Pharm., CXL, p. 187) enthalten 100 Grm. Blut an Haemoglobin, nach der spectroskopischen Methode untersucht:

Hund	Hammel	Ochs	Schwein	Huhn	Ente
13,8	11,2	11,4—13	12—14,1	8,5—12,7	8,1;

dagegen mittelst der Eisenbestimmung berechnet:

Hund	Hammel	Ochs	Schwein	Huhn	Ente
13,3	11,2	13,6	14,3	9—9,8	9,3.

Nach Ssubbotin und Forster (Zeitschrift für Biologie, Bd. VII, S. 435) ist das Blut ausgewachsener Thiere reicher an Haemoglobin, als das junger. Sie fanden im Ochsenblute 10 und 12 pCt., im Kalbsblute 8,9 pCt., beim ausgewachsenen Hunde 13,8 pCt., beim vierwöchentlichen Hunde 3,4 pCt. Hae-

*) Die Entdecker der Blutkrystalle sind Hünefeld (Der Chemismus in der thier. Organisation. Leipzig 1840, S. 7 u. 8) und Reichert (Archiv f. Anat., Physiologie u. wissenschaftl. Medicin, 1849, S. 197—251).

moglobin. Von ebendenselben Forschern wurde festgestellt, dass das Blut der Herbivoren weniger Haemoglobin enthält, als dasjenige der Carnivoren; im Kaninchenblute wurden 8,41 pCt., im Hundeblute 13,8 pCt. Haemoglobin gefunden. Bei den mit Fleisch oder eiweissreicher Nahrung gefütterten Hunden betrug der Haemoglobingehalt 13,75 pCt., bei Fütterung mit stickstofffreien Stoffen 11,65 und 9,5 pCt.; das Blut eines nur mit Brod gefütterten Hundes hatte einen Haemoglobingehalt von 9,37 pCt., das eines anderen von 10,32 pCt.

Bei diesen Untersuchungen ist indessen in Betracht zu ziehen, dass meist das Blut nur eines, höchstens einiger Vertreter ein und derselben Thierspecies untersucht worden ist und dass aus diesem Grunde die erhaltenen Zahlen, so werthvoll dieselben an und für sich sind, nicht im Stande sein können, ein absolut genaues Bild des wahren Haemoglobingehaltes des normalen Thierblutes zu geben. Mit Rücksicht auf die Schwankungen, denen die Haemoglobinmenge des Blutes jeder einzelnen Thierspecies ausgesetzt ist, kann nur massenhaftes Material, können nur grosse Zahlenreihen eine wirklich sichere Auskunft gewähren.

Von dieser Thatsache überzeugt, habe ich mich seit längerer Zeit mit Untersuchungen des Blutes sehr verschiedener Thiere, besonders der Haussäugethiere und des Hausgeflügels, beschäftigt und ein grosses Material zusammengetragen, aus welchem ich das Wichtigste in dieser Arbeit vorlegen will.

Die grössten Schwierigkeiten machte mir bei meinen Forschungen der Umstand, dass von den vielen Untersuchungsmethoden des Blutes auf seinen Haemoglobingehalt keine einzige im Stande ist, den Zwecken der Zoologen in ausreichender Weise zu dienen, d. h. eine schnelle Untersuchung verschiedener Blutarten zu ermöglichen.

Es dürfte der Beweis für diese etwas kühne Behauptung wohl am besten dadurch erbracht werden können, dass ich eine möglichst gedrängte Besprechung der verschiedenen Untersuchungsmethoden des Blutes auf seinen Haemoglobingehalt folgen lasse (cfr. meine Arbeit: „Eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des Oxyhaemoglobins im

Blute der Haussäugethiere," Archiv für wissenschaftl. und prakt. Thierheilkunde, Band XII, Heft 2, 1886, aus welcher das Folgende zum grosse Theile herübergenommen ist).

Voraus habe ich die Bemerkung zu schicken, dass alle bisherigen und zukünftigen Angaben in dieser Abhandlung sich, wenn nicht ausdrücklich anderes angegeben ist, auf das Oxyhaemoglobin oder Sauerstoffhaemoglobin beziehen.

I. Theil.

Die bisherigen Methoden der Oxyhaemoglobinbestimmung im Blute.

Dieselben lassen sich in folgende Klassen theilen:

A. Chemische Methoden.

1. Bestimmung des Oxyhaemoglobins durch den Eisengehalt.
2. Bestimmung des Oxyhaemoglobins durch die Menge des gebildeten Haematins.
3. Bestimmung des Oxyhaemoglobins nach der Menge des von der Haemoglobinlösung aufgenommenen Sauerstoffes, und zwar:
   a) nach Claude Bernard durch Verdrängung des Sauerstoffes mittelst Kohlenoxyd;
   b) nach Gréhant durch Auspumpung des Sauerstoffes;
   c) nach Schützenberger durch Bestimmung des Sauerstoffes mittelst hydroschwefliger Säure.
4. Bestimmung des Oxyhaemoglobins durch die entfärbende Eigenschaft des Chlors.

B. Spectroskopische Methoden.

5. u. 6. Die spectroskopischen Methoden von Preyer und Lesser.

C. Spectrophotometrische Methoden.
7. u. 8. Die spectrophotometrischen Methoden von Vierordt und Hüfner.

D. Colorimetrische Methoden.
9. u. 10. Die Methoden von Hoppe-Seyler und von Worm-Müller.
11. Das Colorimeter von Dubosq (Verfahren von Jolyet und Laffont).
12. Das Chromocytometer von Bizzozero.
13. u. 14. Die Verfahren von Welcker und Hayem.
15. u. 16. Die Hämochromometer von Quincke und Malassez.
17. Das Globulimeter von Mantegazza.

A. Chemische Methoden.

1. Bestimmung des Oxyhaemoglobins aus dem Eisengehalt des Blutes.

Diese Methode fusst auf der Annahme, dass das Haemoglobin genau 0,42 pCt. Eisen enthält, das im Blute enthaltene Eisen aber ausschliesslich dem Haemoglobin angehört, und besteht, wie ich später ausführlich darlegen werde, darin, dass eine bestimmte Menge Blutes eingeäschert, das in der Asche enthaltene Eisen in Lösung übergeführt und schliesslich auf massanalytischem Wege mittelst Permanganat bestimmt wird.

Die Einwände, welche man gegen die Methode ins Feld führt, sind folgende:

1. Es ist nicht vollkommen erwiesen, dass sämmtliche Haemoglobine denselben Eisengehalt haben.

Hoppe-Seyler (Handbuch der phys. u. path.-chem. Analyse. Berlin 1883) giebt eine Zusammenstellung, aus welcher hervorgeht, dass das Haemoglobin des Menschen und des Rindes 0,42 pCt., des Hundes 0,43 pCt. (nach Hoppe-Seyler; Preyer fand nur 0,42 pCt.), des Pferdes 0,47 pCt. (Kossel), des Meerschweinchens 0,48 pCt., des Eichhörnchens 0,59 pCt., der Gans 0,43 pCt., des Schweines 0,43 pCt. Eisen enthält. Die Zahl 0,42

würde somit nur für die Haemoglobine des Menschen und des Rindes, vielleicht noch des Hundes passen, während für die anderen Thierarten der Divisor ein anderer sein müsste. Indessen liegen betreffs dieser so wenige Analysen vor, dass es kaum räthlich sein dürfte, von dem allgemeinen Usus, die Zahl 0,42 als feststehend für sämmtliche Thierarten anzunehmen, abzuweichen. (Vergl. auch Preyer, Die Blutkrystalle. Jena 1871. S. 117, u. a. a. O.)

2. Es ist nicht vollkommen erwiesen, dass das ganze im Blute vorkommende Eisen allein nur im Haemoglobin enthalten ist.

Man sucht diesen Einwand gegen die Methode dadurch zu begründen, dass der Harn constant Spuren von Eisen enthält und dass somit auch im Blutserum Eisen enthalten sein muss. Boussingault (Sur la repartition du fer dans les matériaux du sang. Compt. rend., T. LXXV, 1872) hat gefunden, dass in 100 Grm. Blutserumasche 0,086 Grm. Eisen enthalten ist, während Weber (Phys. Chemie von Gorup-Besanez, S. 361) in der gleichen Aschenmenge 0,26 Grm. Eisen fand. Es ist indessen sehr leicht möglich, dass das im Serum gefundene Eisen aus Verunreinigungen mit Haemoglobin herrührt (vergl. auch Lambling, Des procédés de dosage de l'hémoglobine. Nancy 1882, p. 21). Jedenfalls — und das dürfte den angeführten Vorwurf gegen die Methode sehr mässigen — ist die im Blutserum im normalen Zustande auftretende Eisenmenge eine äusserst geringe.

3. Der Eisengehalt des Blutes ist so gering, dass die unbedeutenden aber unvermeidlichen Fehler, welche bei der Analyse gemacht werden, bedeutende Fehler in der Berechnung des Oxyhaemoglobins hervorrufen,

da, wenn man durch E die Menge des in der Asche von 100 Grm. Blut gefundenen Eisens bezeichnet, die Haemoglobinmenge x, welche diesem Eisen entspricht, ist

$$x = \frac{100}{0{,}42} \cdot E \text{ oder } E \times 238{,}095.$$

Der geringste Fehler wird sich also um das 238fache vervielfältigen müssen! Indessen ist die Sache nicht so schlimm,

denn bei Veraschung grösserer Mengen Blut — 100 bis 200 Grm. — und Anwendung der Titrirmethode werden die Fehler auf ein Minimum reducirt. Der grösste Fehler in den von Pelouze (Sur l'analyse volumétrique du fer contenu dans le sang. Compt. rendus, T. 60, 1865) vorgenommenen Eisenbestimmungen betrug 0,0014 pro 100 Grm. Blut, entsprechend einem Unterschied von 0,33 pCt. Haemoglobin, während die Bluteisenbestimmungen von Lambling (Des procédés de dosage de l'hémoglobine. Nancy 1862) eine Differenz von 0,0013 Eisen oder 0,31 Haemoglobin zeigten.

Ungeachtet dieser drei Einwände, welche zum Theil ja mit Recht gegen die Methode der Haemoglobinbestimmung nach dem Eisengehalt angeführt werden, ist dieselbe durchaus überall da nicht zu entbehren, wo es sich um eine Controle der anderen Methoden zur Haemoglobinbestimmung handelt.

Das zumeist angewendete Verfahren der Eisenbestimmung im Blute ist zuerst von Pelouze (Compt. rend., XV, 1865, p. 880—884) beschrieben worden und besteht in folgenden Manipulationen:

Man verdampft in einer geräumigen Platinschale eine genau abgewogene Menge Blutes, angenommen z. B. 100 Grm. Der Rückstand wird unter langsamer Steigerung der Hitze einige Stunden hindurch verascht und dann in der Wärme mit 10 Ccm. Salzsäure, welche mit einigen Theilen Wasser verdünnt ist, versetzt. Die resultirende klare Flüssigkeit wird mit destillirtem Wasser bis auf 500 Ccm. verdünnt, mit 10 Ccm. einer 10proc. Lösung von schwefligsaurem Natron versetzt und danach kurze Zeit tüchtig gekocht. Nach dem Erkalten der Flüssigkeit wird das in derselben als Oxydul enthaltene Eisen durch Titriren mittelst Chamäleonlösung bestimmt.

Dieses Verfahren erleidet Abänderungen entweder dadurch, dass der salzsaure Auszug in einer Platinschale mit überschüssiger reiner Schwefelsäure versetzt, über kleiner Flamme ohne Sieden verdampft, der erhaltene Rückstand im Wasser gelöst, ungefähr 20 Ccm. einer Lösung von schwefliger Säure zugesetzt und so lange in schwachem Sieden erhalten wird, bis weder Lakmuspapier noch Geruch Spuren von schwefliger Säure nach-

weisen lassen (Hoppe-Seyler, Handbuch der phys. und path. chem. Analyse. Berlin 1883, S. 336), oder dadurch, dass man zur Vermeidung des lästigen Aufblähens des Trockenrückstandes bei der Veraschung denselben 12—24 Stunden einem Heissluftbade von 120° aussetzt und ferner behufs sicherer Auflösung sämmtlichen in der Asche enthaltenen Eisens die Asche mit 20 bis 30 Ccm. Salzsäure kurze Zeit energisch erhitzt (Lambling, Des procédés de dosage de l'hémoglobine Nancy 1882, p. 19), oder schliesslich dadurch, dass man die salzsaure Lösung des Eisens mit Schwefelsäure abraucht und die Oxydsolution mittelst chemisch reinen Zinks völlig reducirt.

In allen Fällen ist schliesslich das Eisen als Oxydulsalz in der Lösung vorhanden, und es erübrigt nun die Bestimmung desselben mittelst des oxydimetrischen Verfahrens. Dasselbe beruht darauf, dass Eisenoxydulsalze durch Uebermangansäure in Eisenoxydsalze umgewandelt werden, während die Uebermangansäure in der sauren Lösung in Manganoxydulsalz übergeht, denn

$$10\,FeO + Mn_2O_7 = 2\,MnO + 5\,Fe_2O_3.$$

Man stellt sich die Massflüssigkeit so dar, dass man 1 Grm. Kaliumpermanganat in 1 Ltr. Wasser löst, eine empirische Lösung, von welcher 0,1 Grm. reinsten weichen Eisendrahtes (sog. Blumendrahtes) nach seiner Auflösung in verdünnter Schwefelsäure 52,2 Ccm. bis zum Eintritt der rothen Farbe gebrauchen muss. Betreffs der eigentlichen Technik des Verfahrens verweise ich auf Dr. Geissler (Grundriss der pharmaceutischen Massanalyse. Berlin 1884, S. 61—71) und beschränke mich hier nur darauf, zu bemerken, dass man behufs Prüfung der Permanganatlösung auf ihre Richtigkeit eine Lösung von Eisensulfat durch Auflösen von genau 0,1 Grm. reinsten Eisendrahtes in 5 Ccm. verdünnter Schwefelsäure und 50 Ccm. Wasser anfertigt, dieselbe mit einer entsprechenden Menge Wassers verdünnt und dann aus einer grösseren, in $^2/_{10}$ Ccm. getheilten Glashahnbürette die Chamäleonlösung allmählich zufliessen lässt. Erst verschwindet die rothe Farbe des Permanganats beim Eintritt in die Flüssigkeit sofort, später erst beim Umschwenken, endlich bleibt sie bestehen. Die Titration ist beendet, sobald die rothe Farbe sich eine Minute lang hält. Ist das Verhältniss festgestellt, so kann durch

tropfenweises Zufügen der Permanganatlösung zu der Bluteisenlösung bis zum Bestehen der rothen Farbe und einfachem Regel-de-tri-Ansatz der Eisengehalt leicht berechnet werden.

In Nachfolgendem erlaube ich mir, den Gang einer Eisenanalyse zu beschreiben, welche ich mit Pferdeblut vorgenommen habe:

225,4 Grm. Pferdeblut (ich arbeitete absichtlich mit so grossen Mengen, um Irrthümer möglichst zu vermeiden) wurden aufs Sorgfältigste eingedampft und bei 100—105 ° C. bis zur Gewichtsconstanz getrocknet. Es resultirte 54,4 Grm. = 24,1 pCt. Blutpulver. Danach wurde ein genau abgewogenes Quantum (ca. 100 Grm. Blut entsprechend) langsam verkohlt, verascht und das Eisen mittelst reiner Salzsäure in Lösung gebracht. Ein Theil der Lösung wurde für die gewichtsanalytische Trennung und Bestimmung durch Abdampfen auf dem Wasserbade vom grösseren Säureüberschuss befreit, dann mit Weinsäure, Chlorammonium und Ammoniak versetzt und hierauf das Eisen mittelst Schwefelammonium als Schwefeleisen gefällt und so von Phosphorsäure etc. getrennt. Das durch Filtration erhaltene, gut ausgewaschene Schwefeleisen wurde in Salpetersäure gelöst, das Eisenchlorid mit Ammoniak als Hydrat gefällt und hierauf als Eisenoxyd zur Wägung gebracht.

Die zweite Hälfte der salzsauren Lösung wurde für die massanalytische Bestimmung mit Schwefelsäure abgeraucht und die so entstandene Oxydsolution mittelst chemisch reinen (absolut eisenfreien!) Zinks völlig reducirt. Die weitere Bestimmung wurde mittelst frisch eingestellter Permanganatlösung nach bekannter Manier ausgeführt.

Es resultirten Eisenoxyd ($Fe_2 O_3$) Procente:

durch Wägung	durch Titriren
0,081 Grm.	0,083 Grm.

Die Differenzen sind sehr gering, so dass der Mittelwerth von 0,082 pCt. Eisenoxyd = 0,0574 Eisen allen Anforderungen genügen dürfte. Berechnet man, von der Annahme ausgehend, dass das Haemoglobin des Pferdeblutes 0,42 pCt. Eisen enthält, den Gehalt an Haemoglobin, so würde sich die Zahl 13,66 er-

geben. Dagegen würde man die Zahl 12,21 erhalten, wenn man nach Kossel den Eisengehalt des Pferdehaemoglobins zu 0,47 pCt. annehmen wollte.

2. Bestimmung des Oxyhaemoglobins durch die Menge des gebildeten Haematins.

Dieses von Brozeit empfohlene Verfahren beruht auf der Umwandlung des Haemoglobins in Haematin, wobei man von der Annahme ausgeht, dass 1 Grm. Haematin 21,31 Grm. Haemoglobin entspricht, wenn, was wohl kaum zweifelhaft ist, sämmtliches Haemoglobineisen bei der Spaltung sich im Haematin wiederfindet. Die Zusammensetzung des trockenen Haematins ist nämlich nach Hoppe-Seyler $C_{68}\,H_{90}\,N_8\,Fe_2\,O_{10}$, so dass sein Moleculargewicht ein Multiplum von 635 ist. Das Verfahren erfordert indessen eine grosse Menge Blut und ziemlich lange Zeit, so dass es sich nicht einzubürgern vermochte.

3. Bestimmung des Oxyhaemoglobins nach der Menge des vom Blute aufgenommenen Sauerstoffes.

Die hierher gehörigen Methoden sind in Deutschland kaum in Anwendung gekommen. Sie bestehen in der Bestimmung des Haemoglobins im Blute durch Messung der Sauerstoffabsorption durch dasselbe und gründen sich auf die Annahme, dass der Haemoglobingehalt des Blutes in constantem Verhältniss steht zu der Maximalmenge des vom Blute absorbirten Sauerstoffs oder — mit den Worten Gréhant's — zu der respiratorischen Capacität des Blutes.

Allein abgesehen von der Thatsache, dass auch im Blutserum kleine Mengen Sauerstoff physikalisch gebunden vorkommen, ist die Hauptfrage: wieviel Sauerstoff wird von 1 Grm. Haemoglobin gebunden? zwar theoretisch, aber nicht experimentell mit genügender Sicherheit beantwortet worden. Während theoretisch die Menge des von 1 Grm. trockenen Haemoglobins locker gebundenen Sauerstoffs 1,6738 Ccm. betragen müsste, fand Hoppe-Seyler (Med. chem. Untersuchungen, Heft II, 1868, S. 191) die Zahl 1,68 Ccm., Dubkowsky (Med. chem. Untersuchungen, Heft I, 1886, S. 117) 1,56, Preyer (De

hemoglobine observationes et experimenta. Bonn 1866, p. 19) 1,80—1,72—1,62, Hüfner (Zeitschrift f. phys. Chemie, Bd. I, 1877, S. 117) 1,52—1,59—1,74.

Die Messung des Sauerstoffes im Blute bewirkt Claude Bernard (cf. Lambling, Des procédés de dosage de l'hémoglobine. Nancy 1882, p. 31) durch Verdrängung des Sauerstoffes mittelst Kohlenoxydgas, Gréhant (Dosage de l'hémoglobine par l'oxygène absorbé. Compt. rend., LXXV, 1872) durch Auspumpung des Sauerstoffes mittelst der Quecksilberluftpumpe, Schützenberger (Bulletin de la Société chimique, XX, 1873) durch Zuhülfenahme der sauerstoffbindenden Eigenschaften der hydroschwefligen Säure. Sämmtliche Methoden erfordern mehr oder weniger complicirte Apparate.

4. Bestimmung des Oxyhaemoglobins durch die entfärbende Eigenschaft des Chlors.

Wenn man eine Blutlösung mit Chlorwasser versetzt, färbt sie sich ohne Trübung zunächst schwarzbraun, dann gelbbraun, schmutzig grünlichgelb, schliesslich grünlichgrau. Um nun diese Eigenschaft des Chlorwassers zur Haemoglobinbestimmung verwenden zu können, muss man zunächst feststellen, wieviel Cubikcentimeter eines Chlorwassers von bestimmter Stärke nöthig sind, um eine Haemoglobinlösung von bekannter Concentration zu entfärben. Quinquaud (Société de Biologie, Mai 1882), der Vater dieser Methode, benutzt zur Prüfung des Chlorwassers auf seinen Chlorgehalt eine Normallösung von 6,187 Grm. arseniger Säure und 3,312 Grm. Natriumcarbonat in 250 Grm. dest. Wassers und hat experimentell festgestellt, dass 5,5 Ccm. eines Chlorwassers, von welchem 10 Ccm. gerade genügend sind, in 4 Ccm. der Normaltitrirlösung das Natriumarsenit in Natriumarsenat zu verwandeln, 0,085 Grm. krystallinisches und bei 100° getrocknetes Haemoglobin entfärben. Die Berechnung ist nunmehr sehr einfach. Angenommen, man fände bei der Titrirung des Chlorwassers, dass 4 Ccm. der Normallösung 11,3 Ccm. Chlorwasser zur Umwandlung des Arsenit in Arsenat beanspruchen, und fände ferner, dass 1 Ccm. Blut zu seiner Entfärbung 11,1 Ccm. dieses Chlorwassers bean-

sprucht, so würde man durch Aufstellung der beiden Gleichungen:

1. 11,3 : 11,1 = 10 : x, also x = 9,82,
2. 5,5 : 0,085 = 9,82 : x, also x = 0,1517,

leicht ausrechnen können, dass in 1 Ccm. des untersuchten Blutes 0,1517 Grm. Haemoglobin oder in 100 Ccm. 15,17 Grm Haemoglobin vorhanden waren.

Diese Quinquaud'sche Methode hat zwar den Vortheil grösster Einfachheit, allein den Nachtheil, dass die Chlorwirkung längst vollendet ist, ehe die Schlussfärbung (in grünlichgrau) eintritt, und dass die Temperatur der Flüssigkeiten und der Umgebung, die Concentration des Chlorwassers, das mehr oder weniger schnelle Zutröpfeln des Chlorwassers zum Blute das Resultat oft nicht unerheblich beeinflussen (cf. auch Lambling, Des Procédés de dosage de l'hémoglobine. Nancy 1882, S. 70).

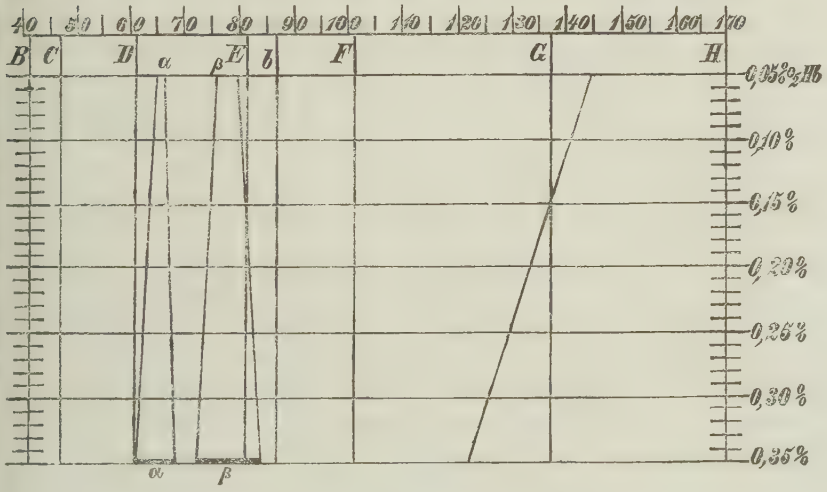
B. Spectroskopische Methoden.

Wenn man eine concentrirte Oxyhaemoglobinlösung in einen sog. Haematinometer, d. h. einem Glaskästchen, welches aus zwei planparallelen Glasplatten besteht, die durch einen metallenen Rahmen gegen die abgeschliffenen Ränder eines Uförmigen, genau 1 Cm. breiten Glasplattenstückes gepresst werden, durch das Spectroskop betrachtet, so findet man im Spectrum nur rothe Strahlen; verdünnt man aber die Lösung, so findet eine schnelle Aufhellung im Gelb bis zur Fraunhofer'schen Linie D, dann im Grün zwischen E und F statt, während zu gleicher Zeit etwa in der Mitte zwischen D und E ein heller gelbgrüner Streifen erscheint. Bei weiterem Verdünnen hellt sich allmählich das ganze Spectrum bis zum Violett auf und es hinterbleiben nur zwischen D und b zwei sehr charakteristische Absorptionsstreifen α und β, welche man mit dem Namen „Oxyhaemoglobinbänder" oder kurzweg „Blutbänder" belegt hat, und von denen der näher bei D liegende Streifen dunkler und schärfer begrenzt ist, als der andere.

Diese Oxyhaemoglobinbänder entdeckte zuerst Hoppe-Seyler im Jahre 1862 an dem mit Wasser an der Luft stark

verdünnten Blute warmblütiger Thiere und fand, dass sie noch erkennbar sind, wenn 1 Grm. trockenen Oxyhaemoglobins in ca. 10000 Ccm. Wasser in einer Schicht von 1 Cm. Dicke vom directen Sonnenlicht durchstrahlt wird (Med. chem. Untersuchungen, 1862, II. Bd., S. 199).

Verdünnt man das Blut noch weiter, so wird zuerst der bei E gelegene Streifen ausgelöscht, und erst nach einer Verdünnung von über 0,003 pCt. (Preyer) verschwindet auch der andere. Durch beifolgende, von mir auf Grund zahlreicher Messungen entworfene Zeichnung habe ich versucht, die Breite der Oxyhaemoglobinbänder in verschieden starken Lösungen ersichtlich zu machen.



Ausser den Absorptionen zwischen D und b findet sich noch eine schlecht begrenzte Absorption im Violett, welche bei Zunahme der Concentration der Oxyhaemoglobinlösung allmählich bis zum Blau vordringt.

Stokes war der erste, welcher darauf aufmerksam machte, dass der Gehalt des Haemoglobins an locker gebundenem Sauerstoff einen fundamentalen Einfluss auf das Spectrum hat. Er fand nämlich, dass das Haemoglobin in zwei Zuständen der

Oxydation existirt, welche durch die Farbe und das Spectrum unterscheidbar sind, dass das sauerstoffhaltige Haemoglobin durch reducirende Substanzen in das sauerstofffreie und dieses durch Schütteln mit atmosphärischer Luft wieder in Sauerstoffhaemoglobin umgewandelt werden kann (Phil. Magazin, Ser. 4, No. 190, 1864, p. 391—400). Wenn man nämlich eine Oxyhaemoglobinlösung mit reducirenden Agentien — Gemischen von Eisenvitriol, Weinsteinsäure und überschüssigem Ammoniak, Schwefelammonium oder ammoniakalischen Lösungen von weinsteinsaurem Zinnoxydul — behandelt, so verschwinden die beiden Absorptionsbänder des Oxyhaemoglobins und statt ihrer entsteht zwischen ihren Plätzen ein breiter Schatten mit schlecht begrenzten Rändern, das von Stokes entdeckte sog. Reductionsband. Ausserdem bemerkt man, dass viel mehr Blau und weniger Grün sichtbar ist als vorher. Diese Schatten verschwinden, sobald durch Schütteln mit Luft die Haemoglobinlösung wiederum oxydirt, und die Oxyhaemoglobinbänder treten von Neuem in die Erscheinung.

Auf dieses Verhalten der Oxyhaemoglobinlösung vor dem Spectroskop beruhen die Methoden von Preyer und Lesser.

5. Preyer's spectroskopische Methode.

Diese Methode beruht darauf, dass concentrirte Lösungen des Oxyhaemoglobins nur für Roth durchsichtig sind, während weniger concentrirte Lösungen auch Gelb und Grün hindurchlassen. Verdünnt man daher eine abgemessene Blutmenge vor dem Spalt eines gewöhnlichen Spectralapparates so lange mit Wasser, bis im Spectrum Grün auftritt, so kann man aus der Verdünnung einen Schluss auf den Farbstoffgehalt machen. Je stärker die zur Sichtbarmachung einer bestimmten Spectralregion nöthige Verdünnung, desto höher ist der Farbstoffgehalt.

Die Verdünnung drückt man aus durch das Verhältniss der ursprünglichen Volumina zu den durch Verdünnung erzielten. Ist z. B. das ursprüngliche Volumen b, das zugesetzte Wasserquantum w, so ist die Verdünnung $\frac{w + b}{b}$. Ist R der bekannte Farbstoffgehalt einer als Norm angenommenen Blutlösung, welche

gerade bei 1 Ccm. Dicke Grün hindurchlässt, so ist der Procentgehalt (x) des geprüften Blutes

$$x = \frac{R(w+b)}{b}.$$

Den Werth von R bestimmt man ein für allemal, indem man sich aus noch feuchtem umkrystallisirten Oxyhaemoglobin eine Lösung hergestellt, welche bei 1 Ctm. Dicke gerade das Grün in der Gegend von b durchgehen lässt. Den Haemoglobingehalt dieser Lösung stellt man dann durch Eindunsten über Schwefelsäure, Trocknen bei 100° und Wägen fest.

Man braucht, um die Methode auszuführen, einen einfachen Spectralapparat ohne Scala und mit unveränderlichem Spalt, eine fein graduirte, genau calibrirte Bürette und ebensolche Pipette, welche in $^1/_{100}$ Ccm. getheilt sind oder wenigstens $^1/_{100}$ Ccm. mit Sicherheit zu schätzen gestatten, und eine constante Lichtquelle mit unveränderlicher Entfernung vom Spalt. Preyer und Henning (Poggendorf's Annalen 149, 349) benutzen als solche eine Petroleumlampe. Behufs der Bestimmung wird das Blut anhaltend mit atmosphärischer Luft geschüttelt und entfasert, $^1/_2$ Ccm. davon abgemessen und nach Verdünnung mit genau demselben Volumen Wasser (um das Pipettiren und die gleichförmige Mischung zu erleichtern) in ein sog. Haematinometer, dessen planparallele Glaswandungen genau 1 Ctm. von einander abstehen, gebracht. Hierauf lässt man aus der getheilten Bürette so lange Wasser unter Umrühren zutröpfeln, bis nach dem sehr bald sichtbar werdenden Roth auch Grün in die Erscheinung tritt. Das verbrauchte Wasserquantum wird dann abgelesen und in obige Formel eingefügt. R ist nach Preyer 0,8 pCt.

Nöthig ist es, das Blut während der Operation fortwährend umzurühren, damit die Blutkörperchen sich nicht setzen und oben farbstoffarme, unten farbstoffreiche Schichten entstehen. Nach dem Defibriniren darf das Blut nicht colirt oder filtrirt werden, weil dadurch ein Theil der Blutkörperchen (nach Preyer ist ein Verlust von über 1 pCt. Haemoglobin zu fürchten) zurückgehalten werden würde.

Preyer hat nach seinem Verfahren eine grössere Anzahl

Blutfarbstoffbestimmungen ausgeführt, welche in seinem Werke „Die Blutkrystalle", Jena 1871, S. 186—129 sich verzeichnet finden.

In einer Besprechung dieser Methode äussert sich Hoppe-Seyler (Handbuch der phys.-path.-chem. Analyse. Berlin 1883, S. 439) folgendermassen: „Dieses Verfahren ist, da man eine constante Lichtquelle auf längere Zeit in der einfachen angegebenen Weise unmöglich erhalten kann und da man auch den Spectralapparat kaum so constant erhalten kann, als es nöthig wäre, überhaupt nur in der Weise zu gebrauchen, dass man stets frische reine Oxyhaemoglobinlösung zum Vergleiche bereit hält. Das Verfahren würde sich noch vereinfachen lassen durch Anwendung eines spitzen Hohlprisma mit der Blutlösung oder Oxyhaemoglobinlösung gefüllt, horizontal vor dem Spalte verschiebbar, mit einer Scala an der einen Seite desselben, doch hat auch diese Veränderung noch keine wesentlichenen Vortheile gebracht." Weiter empfiehlt Hoppe-Seyler den Zusatz einer Spur Aetzkali zum destillirten Wasser, mit dem die gemessene Blutportion verdünnt wird, weil hierdurch Trübungen vermieden werden, die einen Fehler in der Bestimmung bedingen müssen, indem sie Licht durch Zerstreuung entfernen.

6. Lesser's spectroskopische Methode.

Dieses Verfahren gründet sich darauf, dass die Breite der Blutbänder abhängig ist von dem Gehalte des Blutes an Oxyhaemoglobin und dass die nach D gelegene Grenze des α-Bandes sich dieser Linie um so mehr nähert, als der Gehalt des Blutes an Farbstoff zunimmt, hat sich aber nicht einzubürgern vermocht. Lesser (Archiv für Anat. u. Physiol., phys. Abth., 1878) beobachtet vor dem Spalt des Spectroskops mittelst eines Vergleichungsprismas und zweier gleich starker Lichtquellen zu gleicher Zeit die Spectren einer Oxyhaemoglobinlösung von bekanntem Gehalte und des zu prüfenden Blutes. Letzteres wird durch Zutröpfeln von destillirtem Wasser so lange verdünnt, bis die Breite der Oxyhaemoglobinbänder in beiden Flüssigkeiten eine gleiche ist.

C. Spectrophotometrische Methoden.

Eine Lösung ist um so undurchsichtiger, d. h. um so undurchdringlicher für das Licht, je mehr sie färbende Substanz enthält. Selbstverständlich gilt dies nur für diejenigen Lichtstrahlen, welche von dem betr. Farbstoff absorbirt werden. Man kann danach aus der Intensität der Färbung einer Lösung ungefähr einen Schluss auf ihren Gehalt an Farbstoff ziehen, vorausgesetzt, dass man über die Färbung einer Lösung von bestimmter Concentration bereits Erfahrungen gesammelt hat. Nun ist diese Methode insofern einer grossen Genauigkeit fähig, als die Schwächung des Lichts durch Absorption beim Durchgange durch Lösungen einem ganz bestimmten Gesetz, dem sog. Absorptionsgesetz folgt.

Angenommen, das Licht habe die Stärke 1 und würde beim Durchgange durch eine Flüssigkeitsschicht von der Dicke 1 auf $\frac{1}{n}$ reducirt, so wird es, wenn es mit der Intensität $\frac{1}{n}$ in eine zweite gleiche Flüssigkeitsschicht eintritt, nach dem Durchgange wiederum auf $\frac{1}{n}$ reducirt werden, d. h. auf $\frac{1}{n} \times \frac{1}{n} = \frac{1}{n^2}$. Geht nun das Licht von dieser Stärke durch eine dritte gleiche Flüssigkeitsschicht, so wird es wiederum auf $\frac{1}{n}$ reducirt, seine Stärke ist dann $\frac{1}{n^3}$. Somit ist beim Durchgange durch x Flüssigkeitsschichten die Intensität J des übrigbleibenden Lichtes

(1) $J = \frac{1}{n^x}$.

Das Experiment lehrt, dass die Schwächung des Lichtes beim Durchgange durch eine Farbstofflösung, ausgedrückt in Bruchtheilen der ursprünglichen Lichtintensität immer dieselbe ist, gleichviel, ob die ursprüngliche Lichtintensität stark oder schwach war. Handelt es sich darum, verschieden starke Lösungen eines und desselben Farbstoffes auf ihre lichtbrechende Kraft zu vergleichen, so genügt es, die

Schichtendicke jeder derselben anzugeben, welche nöthig ist, die Intensität des auffallenden Lichtes auf einen bestimmten Bruchtheil zu reduciren. Braucht man z. B. eine 3 Ctm. dicke Schicht von einer gewissen Anilinrothlösung, um das gelbe Licht auf $^1/_{10}$ seiner ursprünglichen Intensität zu reduciren, und von einer zweiten solchen Lösung für denselben Erfolg nur eine Schicht von 1,5 Ctm., so ist die lichtschwächende Kraft der ersten Lösung offenbar erheblich geringer, als die der letzten. Je dünner die Schicht ist, welche man anwenden muss, um durchgehendes Licht bis auf $^1/_{10}$ seiner ursprünglichen Intensität zu reduciren, je grösser ist ihre lichtschwächende Kraft. Der reciproke Werth der Schichtendicke ist demnach ein Kriterium für die lichtschwächende Kraft der Substanz. Der reciproke Werth nun der Schichtendicke, welche das Licht durchstrahlen muss, um bis auf $^1/_{10}$ seiner ursprünglichen Intensität abgeschwächt zu werden, wird von Bunsen der Extinctionscoëfficient genannt. Derselbe kann für irgend eine beliebige Farbstofflösung leicht berechnet werden, wenn man im Stande ist, die Lichtschwächung genau zu messen.

Die Lichtintensität J ist nach Durchstrahlung einer Farbstofflösung von der Schichtendicke x:

$$J = \frac{1}{n^x} \text{ also}$$

$$(2)\ \frac{1}{J} = n^x$$

$$x \log n = -\log J$$

$$(3)\ \log n = -\frac{\log J}{x}.$$

Nimmt man an, der Extinctionscoëfficient sei a, so ist sein reciproker Werth gleich der Dicke der Flüssigkeitsschicht, welche die Lichtstärke auf $\frac{1}{10}$ reducirt; setzt man daher in die Gleichung 2 für J den Werth $\frac{1}{10}$, für x den Werth $\frac{1}{a}$, so erhält man:

$$10 = n^{\frac{1}{a}}$$

$$\log 10 = \frac{\log n}{a}$$

oder, da $\log 10 = 1$

$$a = \log n;$$

setzt man für $\log n$ den Werth a in die Gleichung 3, so wird

$$a = \frac{-\log J}{x}.$$

Wird die Dicke der Schicht gleich 1, so ist

$$a = -\log J.$$

Mit anderen Worten: man erhält den Extinctionscoëfficienten, wenn man den negativen Logarithmus der Lichtstärke bestimmt, welche beim Durchgange durch die Dickeneinheit, d. h. durch einen Centimeter Flüssigkeitsdicke, übrig bleibt, indem man die ursprüngliche Lichtstärke gleich 1 setzt. Angekommen, man findet hinter einer centimeterdicken Lösung die Intensität des auffallenden Lichtes gesunken auf $^3/_5$, so ist der Extinctionscoëfficient

$$a = -(\log 3 - \log 5) = \log 5 - \log 3.$$

Die Lichtschwächung ist aber nicht nur abhängig von der Dicke der Farbstofflösung, sondern auch von deren Gehalt an Farbstoff; eine Lösung, welche dreimal soviel färbende Substanz enthält, als eine andere Lösung desselben Stoffes, wird bei $^1/_3$ der Dicke dieselbe absorbirende Kraft ausüben, wie die Lösung von einfachem Gehalt, denn in beiden Fällen begegnet der Lichtstrahl bei seinem Durchgange gleich vielen lichtschwächenden Molekülen. Der Extinctionscoëfficient wird also im letzteren Falle nach der Formel $a = \frac{-\log J}{x}$ dreimal grösser sein. Daraus geht hervor, dass der Extinctionscoëfficient dem Gehalt an färbender Substanz proportional ist. Bezeichnet man den Gehalt an färbender Substanz mit c, den Extinctionscoëfficienten mit a, so ist für Lösungen verschiedener Concentration $a : a^1 = c : {}^1$ oder $\frac{c}{a} = \frac{c^1}{a^1}$, gleich einer Constan-

ten: A. Dieses Verhältniss bezeichnet Vierordt mit dem Namen Absorptionsverhältniss. Man kann die Constante ermitteln, indem man eine Lösung von bekannter Concentration herstellt und von dieser den Extinctionscoëfficienten optisch bestimmt. Man hat dann den Werth $\frac{c}{a} = A$.

Hat man die Zahl einmal bestimmt, so ist es leicht, aus dem beobachteten Extinctionscoëfficienten einer anderen Lösung und der Gleichung $\frac{c}{a} = A$ die Concentration c der Lösung sofort zu berechnen.

Da aber die meisten Körper keineswegs alle, sondern nur gewisse farbige Strahlen des Sonnenlichts absorbiren und sich die Schwächung, welche das Gesammtlicht erfährt, nach der Schwächung jeder Einzelfarbe richtet, so gilt das Absorptionsgesetz nur für homogenes Licht. Man bedient sich deshalb zur Messung der Lichtschwächungen eines continuirlichen Spectrums, von dem man einen bestimmten schmalen Theil auswählt, dessen Absorption durch den zu prüfenden Körper eine besonders ausgezeichnete ist.

Die quantitative Spectralanalyse durch die Lichtabsorption kommt demnach auf die Aufgabe hinaus, die Lichtschwächung welche irgend eine Substanz auf einen bestimmten Theil eines continuirlichen Spectrums ausübt, genau zu bestimmen. Die Helligkeit eines Spectrums wird bestimmt durch das Quantum von Strahlen, welches ein leuchtender Punkt vor dem Spalt durch diesen auf die Collimatorlinse sendet. Je grösser der Spalt ist, ein um so grösseres Strahlenquantum kann hindurchgehen, und wird dasselbe bei unveränderter Spaltlänge offenbar der Spaltbreite proportionirt sein. Was aber für einen leuchtenden Punkt gilt, gilt auch für ein System solcher, d. h. für eine leuchtende Flamme.

Dies sind die Grundprincipien, auf welche sich die Anwendung des Spectralapparates zur Photometrie der Absorptionsspectren gründet. Es kann nicht meine Aufgabe sein, eingehend die Untersuchungsmethoden von Vierordt und Hüfner zu beschreiben. Die Beschreibung der zum Theil complicirten Appa-

rate könnte nur durch Abbildungen, welche allein mehrere Seiten einnehmen würden, verständlich sein, so dass ich mich darauf beschränken muss, einige wenige Andeutungen zu geben, betreffs des Weiteren aber auf die Originalarbeiten — K. Vierordt, Die Anwendung des Spectralapparates zur Photometrie der Absorptionsspectren, Tübingen 1873. Derselbe, Die quantitative Spectralanalyse in ihrer Anwendung auf Physiologie, Physik, Chemie und Technologie, Tübingen 1876. Hüfner, Journal für prakt. Chemie. N. F. Bd. 16, S. 290. Derselbe, Zeitschrift für physiolog. Chemie, Bd. 3, S. 1 — sowie auf die vorzüglichen Sammelwerke von W. Vogel, Praktische Spectralanalyse irdischer Stoffe, Nördlingen 1877, und Branly, Dosages de l'hémoglobine par les procédés optiques, Paris 1882, zu verweisen. Hier nur das Wesentlichste:

Zwischen eine constante Lichtquelle (Lampenlicht) und den Spalt des Spectroskops wird die zu untersuchende Farbstofflösung so eingefügt, dass die untere Hälfte des Spaltes Licht erhält, welches durch die Farbstofflösung gegangen, also durch dieselbe abgeschwächt ist, während die obere Hälfte Licht erhält, welches die Farbstofflösung nicht passirt hat. Von beiden wird im Spectroskop ein Spectrum entworfen, von dem jedoch durch einen am Kopfe des Fernrohres angebrachten Spalt nur ein bestimmter enger Abschnitt zur Beobachtung gelangt, so dass man nahezu einfarbiges Licht erhält, welches zur Hälfte abgeschwächt, zur Hälfte ungeschwächt erscheint. Es wird nun die ungeschwächte Hälfte entweder durch Verengerung des betreffenden Spaltabschnittes, nach Befinden unter Zuhülfenahme von Rauchgläsern (K. v. Vierordt'sche Methode), oder durch Drehung eines im Fernrohr angebrachten Nicol'schen Prismas, wobei das Licht für die betreffende Spalthälfte durch Reflexion polarisirt ist (Hüfner'sche, Glan'sche, Branly'sche Methode), soweit verdunkelt, bis die Lichtintensität beider Hälften des Spectralabschnittes gleiche Helligkeit besitzt, und dann an ad hoc angebrachten Scalen abgelesen, wie gross die Lichtentziehung hat sein müssen.

In seiner Besprechung dieser spectrophotometrischen Methoden sagt Hoppe-Seyler (Handbuch der phys. und path. chem.

Analyse, Berlin 1883, S. 22): „Da es sich bei diesen Bestimmungen lediglich um Gleichstellung der Helligkeit handelt, ist nicht wohl einzusehen, welchen Nutzen das Spectroskop, d. h. die Beschränkung der Absorptionsmessung auf einen schmalen Spectralabschnitt leisten soll. Bei constanter Beleuchtung wird ohne Spectroskop die Gesammtheit der Lichtabsorption und hiermit der Gehalt an Farbstoff mindestens ebenso genau als mit Hülfe des Spectrums in einem schmalen Streifen desselben bestimmt werden können. Theoretisch würde nur auf photometrischem Wege die Bestimmung mehrerer Farbstoffe neben einander in einer und derselben Lösung ausgeführt werden können, aber auch nur unter der Bedingung, entweder dass jeder derselben in einem besonderen Spectralabschnitt kräftige Absorption ausübte, in denen sämmtliche übrigen nur wenig Licht absorbirten, und nun in jedem dieser Abschnitte Bestimmungen der Absorption ausgeführt würden, oder zweitens, dass bis auf die in solchen Abschnitten bestimmbaren Farbstoffe die übrigen auf anderen Wegen bestimmt werden könnten."

D. Colorimetrische Methoden.

Die hierher gehörigen Methoden zur Prüfung des Blutes auf seinen Haemoglobingehalt basiren auf der Voraussetzung, dass zwei Lösungen, welche unter den gleichen Bedingungen den gleichen optischen Effect geben, auch den gleichen Gehalt an Farbstoff besitzen müssen, leiden aber an dem Nachtheil, dass, selbst wenn die Lösungen sehr verdünnt sind, nur der Geübte im Stande ist, feine Farbenabstufungen mit Sicherheit zu unterscheiden, zumal die Unterscheidungsempfindlichkeit des Auges gerade für Roth und Orange sehr gering ist.

Man kann die colorimetrischen Methoden in zwei Hauptgruppen theilen, und zwar:

a) in solche, bei denen das zu prüfende Blut so lange mit Wasser verdünnt wird, bis es eine gewisse, einem bekannten Blutfarbstoffgehalt entsprechende Färbung erlangt hat (Methoden von Hoppe-Seyler, Worm-Müller, Jolyet und Laffont, Bizzozero); und

b) in solche, bei denen das Blut in eine Lösung (Verdünnung) von bestimmter Concentration gebracht und mit einer Reihe von Farbenproben, welche bekannten Oxyhaemoglobingehalten entsprechen, verglichen wird (Methoden von Welcker, Hayem, Quincke, Mantegazza, Malassez).

Der Kürze halber werde ich nur die Methode des Genaueren beschreiben, welche allseitig als die beste aller colorimetrischen Methoden anerkannt wird, nämlich

die Methode von Hoppe-Seyler.

Man stellt aus Meerschweinchen- oder Pferdeblut krystallisirtes Oxyhaemoglobin dar, reinigt es durch Umkrystallisiren, löst dann bei 0° in Wasser und filtrirt. Von dieser concentrirten Normallösung bringt man 20 Ccm. in eine Porcellanschale, verdunstet auf dem Wasserbade, später im Luftbade bei 120° zur völligen Trockne und wägt nach dem Erkalten über Schwefelsäure. Von der übrigen, nunmehr betreffs ihres Oxyhaemoglobingehalts genau bekannten Lösung, die in gut verschlossenen kleinen Flaschen zu verwahren ist, werden 10 Ccm. mit 10 bis 60 Ccm. Wasser verdünnt, die Mischung gut umgeschüttelt und als verdünnte Normallösung bezeichnet. Um mittelst dieser Lösung den Gehalt eines Blutes an Oxyhaemoglobin zu bestimmen, wird eine kleine, genau abgewogene Quantität des am besten vorher defibrinirten Blutes (etwa 1—20 Grm. oder noch weniger) mit viel Wasser verdünnt, so dass 20 Grm. Blut etwa auf 400 Ccm. verdünnt werden, und schreitet man nun zur Farbenvergleichung. Man bedient sich dazu am besten zweier sog. Haematinometer (s. früher). Den einen dieser Glaskästen füllt man mit der verdünnten Normallösung, in den anderen bringt man 10 Ccm. der verdünnten Blutlösung, lässt dann aus einer graduirten Bürette unter Umrühren so lange Wasser zufliessen, bis die Färbung beider Flüssigkeiten einander gleich geworden ist, und liest ab, wieviel Wasser zu 10 Ccm. Blutlösung hinzugefügt wurde. Ist die Färbung beider Flüssigkeiten die gleiche, so enthalten beide in gleicher Quantität auch gleich

viel Oxyhaemoglobin, und es ist daher der Gehalt des Blutes an diesem Farbstoff leicht zu berechnen.

„Es wurden z. B. 20,1862 Grm. defibrinirten Hundeblutes mit Wasser auf 400 Ccm. verdünnt, von dieser Mischung mussten 10 Ccm. mit 38 Ccm. Wasser verdünnt werden, um gleiche Farbe mit der verdünnten Normallösung zu erhalten. Hiernach würden die 400 Ccm. Blutlösung auf 1920 Ccm. verdünnt werden müssen, um die gleiche Farbe mit der Normallösung zu erhalten. Da nun die Normallösung in 100 Ccm. 0,145 Grm. Oxyhaemoglobin enthielt, so würden in 1920 Ccm. Blutlösung von gleicher Färbung 2,784 Grm. Oxyhaemoglobin enthalten sein, und da diese Lösung aus 20,1862 Grm. Blut gewonnen war, so enthielt also das defibrinirte Blut 13,79 pCt. Oxyhaemoglobin“ (Hoppe-Seyler, Handbuch der phys. path. chem. Analyse. Berl. 1883, S. 135—137).

Da sich die Normalhaemoglobinlösung nur kurze Zeit unzersetzt erhält und somit sehr häufig, wenn niedrige Temperatur nicht herstellbar ist, sogar von Tag zu Tag neu bereitet werden muss, ihre Darstellung überdies sehr zeitraubend ist, schlägt Preyer (Die Blutkrystalle, Jena 1871, S. 122) vor, statt der Normalhaemoglobinlösung eine Normalhaematinlösung zu bereiten und behufs Farbenvergleichs erst sämmtliches Haemoglobin in Haematin durch Erwärmen des abgewogenen Blutes mit Essigsäure und Uebersättigen mit verdünnter Natronlauge nach dem Erkalten überzuführen. Die Normalhaematinlösung würde allerdings lange haltbar sein; Preyer zweifelt jedoch, ob in jedem Falle bei Behandlung des Blutes in der angegebenen Weise sämmtliches Haemoglobin in Haematin übergeführt werden kann, und ob wirklich die theoretische Menge Haematin in jedem einzelnen Versuche geliefert wird. Noch umständlicher als die Ueberführung des Haemoglobins in Haematin würde es sein, wenn man die Bestimmung mit Kohlenoxydhaemoglobin ausführen wollte, welches allerdings nach Hoppe-Seyler (l. c. S. 137) sich in seiner Lösung in geschlossener Flasche in 25 Jahren nicht verändert. Man würde dann Kohlenoxyd durch die Normallösung unmittelbar vor dem Einschliessen und ebenso durch das zu untersuchende Blut leiten müssen.

In ähnlicher Weise wie Hoppe-Seyler verfahren Worm-

Müller, Jolyet und Laffont. Ersterer setzt zu einer bestimmten Menge Wasser allmählich und unter stetem Umrühren das zu prüfende Blut, bis eine typische Färbung erreicht ist; letztere benutzen zur Vergleichung farbiges Glas und bedienen sich dabei des Dubosq'schen Colorimeters, eines ziemlich complicirten Apparates, dessen Beschreibung ohne Abbildung schwer verständlich sein würde (Société de Biologie, 1877, sowie Lambling, Des procédés de dosage de l'hémoglobine, Nancy 1882, p. 75—89), während Bizzozero einen von ihm Chromocytometer getauften Apparat construirt hat, welcher nichts weiter ist als ein Donné'sches Lactoskop von sehr kleinen Dimensionen (Atti d. R. Acad. de Scienze di Torino, Mai 1879). Zur Vergleichung benutzt Bizzozero auf einem Objectträger fixirtes Kaninchenblut (von unbekanntem Haemoglobingehalt!).

Nach der Methode von Welcker wird das zu untersuchende Blut mit Wasser in eine bestimmte Verdünnung gebracht und mit einer Reihe mehr oder weniger concentrirter Blutlösungen von bekanntem (besser: geschätztem) Gehalt an Blutkörperchen verglichen. Da sich indessen die Normalblutlösungen schnell zersetzen, lässt Welcker dieselben in bestimmter Weise auf gut geleimtem Papier eintrocknen und stellt so Blutflecken her, deren jeder einer Blutlösung von bekanntem Blutkörperchengehalt entspricht. Um Blut zu prüfen, verdünnt man dasselbe mit Wasser, lässt es in der vorgeschriebenen Weise auf Papier eintrocknen und vergleicht mit den Normalblutflecken (Vierteljahrsschrift f. d. prakt. Heilkunde, 44. Bd., 1854). Da die von Welcker benutzten Normalblutlösungen nur auf ihren Gehalt an Blutkörperchen, nicht aber auf ihren Haemoglobingehalt bestimmt sind, aus der Menge der Blutkörperchen in einem Blute aber nur ein sehr relativer Schluss auf den Haemoglobingehalt desselben gezogen werden kann, dürfte die Welcker'sche Methode nicht mit den anderen Methoden concurriren können.

Ebenso wenig kann das von Quincke (Berl. klin. Wochenschrift, 32, 1878) construirte Haemochromometer strengeren Anforderungen gerecht werden. Dasselbe besteht im Wesentlichen aus 20 neben einander aufgestellten dünnen Röhren, welche an beiden Enden zugeschmolzen und mit Lösungen von

Picrocarmin in verschiedenen Concentrationsgraden gefüllt sind. Zur Bestimmung des Haemoglobingehalts genügt 1 Tropfen Blut, der mit Liq. ammon. caust. verdünnt wird. Quincke geht bei der Graduirung des Apparates von der Voraussetzung aus, dass die Färbung einer 8 proc. Picrocarminlösung genau derjenigen des normalen menschlichen Blutes entspricht, ohne indessen eine genaue Analyse des betreffenden Blutes vorgenommen zu haben; es dürfte somit das kleine Instrument recht gut zur Vergleichung verschiedener Blutproben, nicht aber zur genauen Bestimmung des Haemoglobingehalts zu verwenden sein.

Malassez (Archives de Physiolog., 1877) vergleicht die zu prüfende Blutlösung mittelst eines farbigen Prismas; Hayem (Société de Biologie, 1877) hat einen Apparat construirt, der sich am besten mit dem Heusner'schen Milchspiegel vergleichen lässt; Mantegazza's (aus Lambling, Des procédés de dosage de l'hémoglobine, Nancy 1882, S. 109) Globulimeter beruht darauf, dass man eine Blutlösung vor eine Kerzenflamme hält und zwischen das Auge des Beschauers und die Blutlösung mehr oder weniger intensiv blaue Gläser bringt, bis ein Zeitpunkt kommt, wo die Flamme nicht mehr sichtbar ist.

II. Theil.

Meine Methode zur Bestimmung des Oxyhaemoglobingehaltes.

Sämmtliche colorimetrische Methoden, von denen, wie wir gesehen haben, nur die von Hoppe-Seyler den wahren Gehalt des Haemoglobins im Blute mit ziemlicher Genauigkeit anzugeben im Stande ist, sind leider nur in sehr beschränkter Weise zu verwenden überall da, wo es sich um Bestimmungen des Haemoglobingehalts in Thierblut handelt. Es ist nämlich Thatsache, dass das Blut jeder einzelnen Thierart seine charakteristische Färbung besitzt und dass das Blut der verschiedenen Thierarten, selbst bei gleichem Haemoglobingehalt und dem-

selben Blutgefäss entnommen, wesentliche Färbungsunterschiede zeigt. Besonders auffällig sind dieselben zwischen dem arteriellen Blute des Hundes, Schweines, Pferdes und Rindes. Ersteres ist am hellsten, letzteres am dunkelsten gefärbt, obgleich der Haemoglobingehalt des Hundsblutes von dem des Rindsblutes nur sehr unwesentlich abweicht. Diese Differenz in der Färbung bleibt auch bei der Verdünnung des Blutes mit Wasser und energischem Schütteln an der Luft bestehen, so dass man, wollte man mittelst einer der colorimetrischen Methoden Untersuchungen von Thierblut vornehmen, für jede Thiergattung ein besonderes Normalblut haben müsste.

Es bleibt somit nichts weiter übrig, als sich zu derartigen Bestimmungen einer der chemischen, spectroskopischen oder spectrophotometrischen Methoden zu bedienen, welche indessen entweder grosse Uebung voraussetzen oder kostspielige Apparate erfordern, alle aber, natürlich mit Ausnahme der sehr schwierigen Bluteisenbestimmung, an dem Uebelstand leiden, dass — wenn Irrthümer vermieden werden sollen — eine Defibrinirung des zu untersuchenden Blutes vorhergehen muss, dies aber die Entnahme einer grösseren Quantität Blutes, z. B. also 20 Grm. voraussetzt. Nun ist es bekannt, dass die Vornahme eines Aderlasses bei gewissen Krankheiten oft die schädlichsten Folgen nach sich zieht und dass durch wiederholte Entnahme selbst relativ geringer Blutmengen die Zusammensetzung dieser Flüssigkeit alterirt wird.

Aus diesen Gründen habe ich mich seit längerer Zeit einer Methode zur schnellen Oxyhaemoglobinbestimmung bedient, welche die Defibrinirung des Blutes unnöthig macht und mit kleinen Mengen — mindestens 0,4 Ccm. — zu arbeiten gestattet. Diese Methode beruht auf folgenden Sätzen:

1. Wenn man Blut in reinem[1]) Glycerin auffängt, so tritt

---

*) Nach Verdünnung mit 5 Th. Wasser darf reines Glycerin durch Schwefelwasserstoff und Schwefelammonium nicht verändert, durch Silbernitrat, Baryumnitrat, Ammoniumoxalat und Chlorcalcium nicht getrübt werden (Metalle, Salz- und Schwefelsäure, Kalk, Oxalsäure). Eine ammoniakalische Silberlösung darf bei gewöhnlicher Temperatur binnen $^1/_4$ Stunde durch Glycerin nicht reducirt werden (Aldehyd, Ameisensäure, Akroleïn).

eine Gerinnung nicht ein; das anfangs eigenthümlich chokoladenfarbige Gemisch wird nach wenigen Minuten klar und durchsichtig und behält diese Eigenschaft bei weiterem Verdünnen mit Glycerin (nicht mit Wasser!) bei. Die Glycerinblutlösung bleibt, in gut verschlossenen Gefässen und in dunklem Raume aufbewahrt, sehr lange unzersetzt, und selbst beim Stehen an der Luft waren nach einer Woche die Oxyhaemoglobinbanden vollkommen unverändert und nur eine höchst minimale Andeutung einer Absorption machte sich in Roth bemerklich. Beim Schlagen an der Luft wird das Haemoglobin des in Glycerin gelösten Blutes genau so mit Sauerstoff gesättigt, wie dasjenige des intacten oder in Wasser gelösten Blutes.

2. Wenn man zu einer wässerigen oder glycerinhaltigen, mit Sauerstoff gesättigten Blutlösung höchst verdünnte Salpetersäure fliessen lässt, so nimmt die Lösung ohne jede Trübung eine braune Färbung an, die Oxyhaemoglobinbanden verschwinden vollständig und im Spectrum resultirt ein Säureband in Roth (44—51). Das Spectrum ist somit nach Beendigung des Processes in Gelb und Grün vollkommen ungetrübt.
3. Das Quantum Salpetersäure, welches man braucht, um in einer bestimmten Menge Blutes die Oxyhaemoglobinbänder auszulöschen, ist abhängig vom Quantum des in dem Blute enthaltenen Oxyhaemoglobins. Die Temperatur der Umgebung und der Flüssigkeiten hat auf die Exactheit der Reaction keinen Einfluss, sobald sie + 18 ° R. nicht übersteigt und nicht unter + 10 ° R. sinkt. Bei höherer Temperatur würde man weniger, bei niedrigerer mehr Titrirflüssigkeit verwenden müssen und somit ungenaue Resultate erzielen.
4. Um diese Eigenthümlichkeit der höchst verdünnten Salpetersäure zur Bestimmung des Oxyhaemoglobingehalts im Blute verwenden zu können, muss man ein- für allemal feststellen, wie viele Cubikcentimeter Salpetersäure von bestimmter Verdünnung nöthig sind, um in einer

gegebenen Menge Blutes von bekanntem Oxyhaemoglobingehalt die Sauerstoffbänder zum Verschwinden zu bringen. Ist dies geschehen, so wird sich in jedem anderen Blute mittelst Titrirens durch entsprechend verdünnte Salpetersäure und durch einen einfachen Regel-de-tri-Ansatz der Oxyhaemoglobingehalt leicht bestimmen lassen.

Gesetzt z. B. den Fall, man hätte definitiv festgestellt, dass 6,95 Ccm. einer 2 proc. wässerigen Lösung von reiner Salpetersäure nöthig sind, um in 0,4 Ccm eines Blutes von 9,83 pCt. Oxyhaemoglobingehalt die Sauerstoffstreifen zum Verschwinden zu bringen, und man würde nur 5,3 Ccm. derselben Lösung brauchen, um in 0,4 Ccm. eines anderen Blutes den gleichen Effect zu erzielen, so würde die Formel lauten:

$$6{,}95 : 9{,}83 = 5{,}3 : x$$
$$x = 7{,}49,$$

oder, was auf dasselbe hinauskommt, aber arithmetisch richtiger ist:

$$6{,}95 : 5{,}3 = 9{,}83 : x$$
$$x = 7{,}49.$$

Auf diesen Sätzen beruht die Methode. Am geeignetsten zu ihrer Ausführung haben sich 2proc. Lösungen, also 2proc. Blutglycerinlösungen und 2proc. Salpetersäurelösungen bewährt. Zu jeder Probe wurden 20 Ccm. der Blutlösung — also 0,4 Ccm. Blut — verwendet, und es ergab sich im Mittel aus 20 Proben,

dass 6,95 Ccm. einer 2proc. wässerigen Lösung von Acidum nitricum purum, welches genau den Anforderungen der Pharm. Germ. II. entspricht, also ein specif. Gewicht von 1,185 und einen Säuregehalt von 30 pCt. hat, nöthig sind, um in 0,4 Ccm. eines Blutes von 9,83 pCt. Oxyhaemoglobingehalt die Oxyhaemoglobinbänder zum Verschwinden zu bringen.

Die Feststellung des Haemoglobingehaltes geschah mittelst der Eisenbestimmung: 473,7 Grm. Rindsblut wurden ein-

gedampft und bei 100—105° C. getrocknet. Es resultirte 100,5 Grm. = 21,2 pCt. Blutpulver. Davon wurde ein genau abgewogenes Quantum, 100 Grm. Blut entsprechend, langsam verkohlt, verascht und das Eisen mittelst reiner Salz- und Salpetersäure in Lösung gebracht. Die salzsaure Lösung wurde mit Schwefelsäure abgeraucht und durch Reduction mit absolut eisenfreiem Zink das Eisenoxyd in Oxydul umgewandelt. Die Titrirung mit Kaliumpermanganat ergab einen Procentgehalt an Eisenoxyd von 0,059 Grm., welcher entspricht einem Gehalt an Eisen von 0,0413 Grm. Hieraus berechnet sich ein Gehalt von 9,83 Grm. Oxyhaemoglobin in 100 Grm. des Blutes.

Zur

Ausführung der Methode

bedarf man:

1. eines Spectroskops à vision directe;
2. einer gut leuchtenden Petroleumlampe;
3. einer in $^1/_{20}$ Ccm. getheilten Bürette und eines in $^1/_2$ Ccm. getheilten Masscylinders;
4. eines sog. Haematinometers, dessen planparallele Wandungen $^3/_4$ Ctm. voneinander stehen.

Directes Sonnenlicht zur Untersuchung zu verwenden, ist deshalb nicht rathsam, weil die unter dem Namen „Regenbänder" bekannten atmosphärischen Linien, besonders der selbst bei leidlich trockener Luft rechts von D auftretende breite Schatten, leicht Täuschungen veranlassen können; der Einwand wird natürlich hinfällig, weun man mit einem Spectroskop à vision directe mit Vergleichungsprisma arbeitet.

Die Dicke der Flüssigkeitsschicht hat auf den Erfolg der Probe keinen ausserordentlichen Einfluss, doch ist es klar, dass der Zeitpunkt des vollständigen Verschwindens der Blutbänder vom Auge um so schneller wahrgenommen werden wird, je dünner die Flüssigkeitsschicht ist.

Bei der Untersuchung von Blut verfahre ich in folgender Weise:

In einen in $^1/_2$ Ccm. getheilten Masscylinder, welcher bis zu einem gewissen Theilstrich mit Glycerin gefüllt ist, lässt man unter stetem Umrühren mittelst eines dünnen Glasstäbchens (am

besten direct aus der Ader) eine kleine Menge Blutes fliessen, liest die aufgefangene Blutmenge ab und verdünnt die ganze Portion oder einen Theil derselben der Art mit Glycerin, dass in 100 Vol. 2 Vol. Blut enthalten sind. Von dieser 2proc. Blutlösung werden 20 Ccm. in ein Haematinometer gebracht und dasselbe wird dicht vor den Spalt des Spectroskops gestellt. Hierauf lässt man aus der Bürette unter energischem Umrühren so lange 2proc. Salpetersäurelösung zutröpfeln, bis die Oxyhaemoglobinbänder vollständig verschwunden sind. Ist dieser Moment erreicht, so wird die verbrauchte Salpetersäuremenge abgelesen und, wenn man dieselbe mit sm bezeichnet, der Haemoglobingehalt nach der Formel

$$6{,}95 : 9{,}83 = sm : x$$

berechnet.

Um die Genauigkeit des Verfahrens zu prüfen, habe ich Pferdeblut zu gleicher Zeit auf meine Methode und direct durch Eisenbestimmung untersucht. Auf dem ersten Wege erhielt ich folgende Zahlen:

	Blutmenge. Ccm.	Titrirflüssigkeit. Ccm.	Haemoglobingehalt. pCt.
1. Probe	0,4	9,75	13,79
2. Probe	0,4	9,70	13,71
3. Probe	0,4	9,60	13,57
4. Probe	0,4	9,70	13,71
5. Probe	0,4	9,65	13,64
Mittel	0,4	9,68	13,68

Behufs der Eisenbestimmung wurden 225,4 Grm. in bekannter Weise getrocknet, verascht, und das Eisenoxyd wurde sowohl auf gewichtsanalytischem als massanalytischem Wege bestimmt. Es ergab sich ein Gehalt von 0,081 pCt. Fe_2O_3 durch Wägung, von 0,083 pCt. Fe_2O_3 durch Titriren mittelst Permanganat. Der Mittelwerth betrug also 0,082 pCt. Fe_2O_3,

welches entspricht 0,0574 pCt. Eisen und 13,66 pCt Oxyhaemoglobin. Stellt man diese letztere Zahl den durch meine Methode gefundenen Zahlen gegenüber, so wird man finden, dass die Differenz nur höchst unbedeutend ist.

Wenn es nicht auf absolute Genauigkeit ankommt, kann man übrigens ein mit fester Graduirung versehenes Haematinometer benutzen und in demselben sowohl die nöthige Verdünnung des Blutes mit Glycerin vornehmen, als auch an der Graduirung die verbrauchte Titrirflüssigkeit ablesen. Es werden dadurch Masscylinder und Bürette entbehrlich und die ganze Methode wird überaus vereinfacht.

III. Theil.

Der Oxyhaemoglobingehalt des Blutes der Haussäugethiere und des Hausgeflügels.

Mittelst des im vorigen Abschnitt beschriebenen Verfahrens habe ich eine grosse Menge Oxyhaemoglobinbestimmungen vorgenommen, welche ich nachstehend folgen lasse.

Zu jeder Probe wurden 20 Ccm. einer 2proc. Blutglycerinlösung, also 0,4 Ccm. Blut verwendet.

A. Haussäugethiere.

Versuchsthier.	Zahl der Proben.	Verbrauchte Titrirflüssigkeit (im Mittel.) Ccm.	Oxyhaemoglobin. pCt.
I. Bos taurus.			
a) Männliche Thiere.			
1. 10 Tage alt	5	5,99	8,47
2. 14 Tage alt	5	5,62	7,94

Versuchsthier.	Zahl der Proben.	Verbrauchte Titrirflüssigkeit (im Mittel.) Ccm.	Oxyhaemoglobin. pCt.
3. 2 Jahre alt	5	7,60	10,74
4. 4 Jahre alt	4	7,98	11,28
b) Weibliche Thiere.			
5. 10 Tage alt	4	5,70	8,06
6. 20 Tage alt	5	6,01	8,50
7. 1 Jahr alt	5	6,05	8,55
8. 3 Jahre alt	5	7,15	10,11
9. 6 Jahre alt	4	6,86	9,70
10. 14 Jahre alt	7	6,22	8,79
c) Männliche Castraten.			
11. 3 Jahre alt	20	6,95	9,83
12. 4 Jahre alt	5	9,83	13,90
13. 5 Jahre alt	4	8,70	12,30
14. 8 Jahre alt	4	8,00	11,31
II. Ovis aries.			
a) Männliche Thiere.			
1. 2 Jahre alt (sehr fett)	5	7,75	10,96
2. 3 Jahre alt (sehr fett)	4	7,90	11,17
3. 5 Jahre alt (sehr fett)	5	7,54	10,66
4. 5 Jahre alt (mager) .	5	7,33	10,36
b) Weibliche Thiere.			
5. $^1/_4$ Jahr alt	4	6,52	9,22
6. 2 Jahre alt	5	6,85	9,68
III. Equus caballus.			
a) Männliches Thier.			
1. 4 Jahre alt	4	9,72	13,74

Versuchsthier.	Zahl der Proben.	Verbrauchte Titrirflüssigkeit (im Mittel.) Ccm.	Oxyhaemoglobin. pCt.
b) Weibliche Thiere.			
2. 6 Jahre alt	5	9,21	13,02
3. 16 Jahre alt	5	9,80	13,86
4. 20 Jahre alt	5	9,68	13,68
c) Männlicher Castrat.			
5. 16 Jahre alt	4	8,12	11,48
IV. Sus scrofa.			
a) Männliche Thiere.			
1. 6 Wochen alt (krank)	4	6,50	9,19
2. 3 Jahre alt	5	9,70	13,71
b) Weibliche Thiere.			
3. 4 Jahre alt	4	9,56	13,52
c) Männliche und weibliche Castraten.			
4. 1 Jahr alt (mager) .	5	8,94	12,64
5. 1 Jahr alt (mässig fett)	5	9,87	13,96
6. 1 Jahr alt (sehr fett).	5	9,32	13,18
V. Canis familiaris.			
a) Männliche Thiere.			
1. 10 Tage alt	6	4,21	5,95
2. 2 Jahre alt	4	8,02	11,34
3. 12 Jahre alt	5	7,45	10,53
b) Weibliche Thiere.			
4. 5 Monate alt	4	7,11	10,05
5. 18 Monate alt . . .	4	7,76	10,97

Aus diesen Zahlen geht hervor:

1. dass 100 Gramm Blut an Oxyhaemoglobin enthalten
   beim Rinde 9,96 Grm.,
   beim Schafe 10,34 Grm.,
   beim Pferde 13,15 Grm.,
   beim Schweine 12,70 Grm.,
   beim Hunde 9,77 Grm.
2. dass das Blut junger Thiere ärmer an Oxyhaemoglobin ist als das ausgewachsener Thiere; 100 Gramm Blut enthielten bei den vier 10—20 Tage alten Kälbern im Mittel nur 8,26 Grm., bei den erwachsenen Rindern 10,65 Grm., beim 10 Tage alten Hunde 5,95 Grm., bei den übrigen Hunden 10,72 Grm. Oxyhaemoglobin.
3. dass das Blut männlicher Thiere reicher an Oxyhaemoglobin ist, als das der weiblichen Thiere, und dass — wenigstens beim Rinde und beim Schweine — das Blut der Castraten mehr Oxyhaemoglobin enthält, als dasjenige der nicht ihrer Zeugungsorgane beraubten Thiere. Das Blut der männlichen Rinder enthielt im Mittel 9,67 pCt., das der weiblichen Rinder 8,95 pCt., das der männlichen Schafe 10,78 pCt., das der weiblichen Schafe 9,45 pCt. Oxyhaemoglobin.
4. dass im Alter ein wesentlicher Rückgang im Oxyhaemoglobingehalt des Blutes nicht stattfindet; die 14 Jahre alte Kuh zeigte ebensowenig einen Rückgang im Reichthum ihres Blutes an Haemoglobin, wie die 20 Jahre alte Stute und der 12 Jahre alte Hund.
5. dass der Oxyhaemoglobingehalt des Blutes zum Ernährungszustand der Thiere in keinem besonderen Verhältniss zu stehen scheint, wie aus den Zahlen der Abtheilungen für Ovis aries und Sus scrofa hervorgeht.

B. Hausgeflügel.

Versuchsthier.	Zahl der Proben.	Verbrauchte Titrirflüssigkeit (im Mittel.) Ccm.	Oxyhaemoglobin. pCt.
I. Gallus domesticus.			
a) Männliche Thiere.			
1. Wenige Tage alt . .	4	4,89	6,91
2. 8 Wochen alt . . .	5	10,81	15,28
3. 4 Monate alt. . . .	5	12,30	17,39
4. 1 Jahr alt	5	11,64	16,46
5. Sehr alt	5	11,78	16,66
b) Weibliche Thiere.			
6. 2 Jahre alt	4	11,50	16,26
7. 3 Jahre alt	5	10,99	15,54
8. Sehr alt	4	11,20	15,84
c) Männliche Castraten.			
9. $^1/_2$ Jahr alt	4	13,05	18,45
10. $^1/_2$ Jahr alt	5	12,22	17,28
II. Columba domestica.			
a) Männliche Thiere.			
1. 4 Wochen alt . . .	4	10,60	14,99
2. Sehr alt	5	12,45	17,75
b) Weibliche Thiere.			
3. $^1/_4$ Jahr alt	4	12,10	17,11
4. 1 Jahr alt.	4	12,01	16,98
5. Sehr alt	5	11,86	16,91
III. Anas boschas domestica.			
a) Männliche Thiere.			
1. $^3/_4$ Jahr alt	4	12,99	18,37

Versuchsthier.	Zahl der Proben.	Verbrauchte Titrirflüssigkeit (im Mittel.) Ccm.	Oxyhaemoglobin. pCt.
2. $1^1/_2$ Jahr alt	5	12,07	17,07
3. 2 Jahre alt , . . .	4	13,10	18,52
b) Weibliche Thiere.			
4. $^1/_2$ Jahr alt	4	11,80	16,68
5. Sehr alt	5	12,25	17,32
IV. Anser domesticus.			
a) Männliche Thiere.			
1. 1 Jahr alt	5	12,00	16,97
2. 2 Jahre alt	5	11,15	15,76
b) Weibliches Thier.			
3. Ziemlich alt	4	11,72	16,57
V. Meleagris gallopavo.			
Männliches Thier.			
1. 2 Jahre alt	5	11,75	16,61

Bei Betrachtung dieser Zahlen muss der ausserordentlich hohe Oxyhaemoglobingehalt des Blutes der Hausvögel ins Auge fallen; er beträgt

beim Haushuhn 15,60 (bez. 16,75 nach Abzug des sehr jungen Thieres),
bei der Taube 16,74,
bei der Ente 17,59,
bei der Gans 16,43,
beim Truthahn 16,61 pCt.

Diese Thatsache, welche dann nicht besonders verwundern kann, wenn man bedenkt, eine wieviel grössere Energie der Circulation und Respiration die Vögel besitzen im Verhältniss zu den grösseren Säugern, steht etwas im Gegensatz zu den

Zahlen, welche Preyer gefunden hat. Derselbe prüfte allerdings nur junge, nicht ausgewachsene Thiere (deren Blut-Haemoglobingehalt immer geringer ist, als derjenige älterer Thiere) mittelst seiner spectroskopischen Methode und fand im Blute zweier Hähne 9,02, bez. 9,33, in dem einer Henne 9,84, in dem einer Ente 9,29 pCt. Oxyhaemoglobin.

Dies veranlasste mich, eine

Bluteisenbestimmung

vorzunehmen. Vom Blute einer älteren weiblichen Gans wurden 20 Grm. in der von mir bereits früher genau beschriebenen Art und Weise verascht, das Eisen mittelst Salzsäure in Lösung gebracht, die salzsaure Lösung mit Schwefelsäure abgeraucht, die so entstandene Oxydsolution mit Zink reducirt und mit titrirter Chamäleonlösung oxydirt.

Es ergab sich ein Gehalt von 0,098 pCt. $Fe_2 O_3 = 0{,}0686$ $Fe = 16{,}33$ Oxyhaemoglobin.

Eine nach meiner Methode vorgenommene Controluntersuchung ergab im Mittel aus 4 Proben 16,57 pCt. Oxyhaemoglobin.

Es dürfte somit angenommen werden können, dass das Blut der von mir untersuchten Vögel in der That einen wesentlich höheren Oxyhaemoglobingehalt besitzt, als dasjenige der Haussäugethiere.

Im Uebrigen ist bei den Hausvögeln die Menge des Oxyhaemoglobins im Blute von denselben Bedingungen abhängig wie bei den Haussäugethieren.

Druckverbesserung: S. 4, Z. 14 lies 1851; S. 6, Z. 3 lies grossen; S. 7, Z. 13 ist nachzutragen: 18. Das Haemometer von v. Fleischl. Med. Jahrb. d. k. k. Gesellsch. der Aerzte in Wien. 1885. und N. F. Jahrg. 1886; S. 13, Z. 1 lies hemoglobino.

Druck der Rossberg'schen Buchdruckerei in Leipzig.